

AValiação DO TESTE DE 1600m SOBRE MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E DANOS MUSCULARES EM CORREDORES JUVENIS

Patrícia Morgana Ferreira Santos¹, Lúcio Marques Vieira Souza¹
 Jymmys Lopes dos Santos¹, Matias Batista dos Santos¹
 João Eliakim dos Santos Araújo¹, Rita De Cássia de Santana Dantas¹
 Natanael Vinicius Sena Santos¹, Luis Fernando Sousa Filho¹
 Evaleide Diniz de Oliveira¹, Emerson Pardonó¹

RESUMO

O exercício físico intenso e prolongado pode ocasionar estresse oxidativo e danos musculares, gerando prejuízo no desempenho do atleta. O estudo tem como objetivo investigar o efeito agudo do teste de 1600m sobre o estresse oxidativo e danos musculares em corredores juvenis. Participaram desse estudo nove adolescentes entre 15 e 18 anos de idade. Foi realizado o teste de 1600m para avaliar a capacidade aeróbia, onde os voluntários realizaram quatro voltas em pista de 400m, perfazendo um total de 1600m. Não houve aumento no marcador de estresse oxidativo tecidual avaliado pelo TBARS no pós-teste. Em relação à enzima antioxidante, o protocolo não promoveu um aumento da atividade da glutathione. Nas concentrações plasmáticas de lactato desidrogenase e da creatina quinase tiveram um aumento significativo depois do teste de 1600m comparado ao pré-teste. Conclui-se que o teste de 1600m promove danos musculares, no entanto não foi gerado estresse oxidativo.

Palavras-chave: Exercício Físico. Estresse Oxidativo. Dano Muscular. Corredores.

1-Programa de Pós-Graduação em Educação Física, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão-SE, Brasil

ABSTRACT

Evaluation of the 1600m test on markers of oxidative stress and muscle damage in young runners

The intense and prolonged physical exercise can cause oxidative stress and muscular damages, generating damage in the performance of the athlete. The aim of this study was to investigate the acute effect of the 1600m test on oxidative stress and muscle damage in young runners. Nine adolescents between 15 and 18 years of age participated in this study. The 1600m test was performed to evaluate the aerobic capacity, where the volunteers performed four laps on the 400m lane, making a total of 1600m. There was no increase in the tissue oxidative stress marker evaluated by the TBARS in the post-test. In relation to the antioxidant enzyme, the protocol did not promote an increase of glutathione activity. Plasma concentrations of lactate dehydrogenase and creatine kinase had a significant increase after the 1600m test compared to the pre-test. It was concluded that the 1600m test promotes muscle damage, however no oxidative stress was generated.

Key words: Physical exercise. Oxidative stress. Muscle Damage. Runners.

E-mails dos autores:

patricia.morgana@gmail.com
 profedf.luciomarkes@gmail.com
 jymmyslopes@yahoo.com.br
 matiasyuri@gmail.com
 araujo_jes@yahoo.com.br
 nutridantasconsultoria@yahoo.com.br
 natan_sena1@hotmail.com
 fernandosouf@hotmail.com
 evaleide@uol.com.br
 pardono@gmail.com

INTRODUÇÃO

A geração de radicais livres é um processo fisiológico que acontece de forma contínua (Lima, Voltarelli e Kietzer, 2015).

Eles atuam como mediadores na transferência de elétrons nas várias reações químicas (Antunes Neto e colaboradores, 2013), e sua formação em proporções adequadas, possibilita a produção de energia através da cadeia transportadora de elétrons, nos processos de defesa do organismo, dentre outras funções importantes, no entanto a produção excessiva pode conduzir a danos oxidativos (Antunes Neto e colaboradores, 2013; Shami e Moreira, 2004).

Quando há um desequilíbrio entre a formação de compostos oxidantes e os antioxidantes em favor dos radicais livres e a velocidade de remoção do excesso não é suficiente, o organismo entra no processo chamado de estresse oxidativo (Halliwell e Whiteman, 2004).

Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (Halliwell e Whiteman, 2004).

No decorrer da atividade aeróbia o consumo energético do tecido muscular pode aumentar 20 vezes, elevando o fluxo de oxigênio e o fluxo sanguíneo no músculo esquelético em cerca de 100 vezes e 30 vezes respectivamente (Amorim e Tirapegui, 2008).

Além disso, na passagem do estado de repouso para o exercício, nenhum outro tecido, além do muscular, é capaz de sofrer tamanha mudança quanto ao consumo de oxigênio.

Sendo que uma porcentagem fixa deste oxigênio é reduzida a radical superóxido (O_2^-), portanto, a musculatura exercitada é uma fonte geradora de radicais livres (Amorim e Tirapegui, 2008).

Os danos associados ao estresse oxidativo induzidos pelo exercício intenso estão relacionados com a diminuição do desempenho físico, associado à presença de fadiga muscular e danos musculares (Antunes Neto e colaboradores, 2013).

De uma forma geral, indivíduos que se submetem a exercícios intensos e prolongados ou treinos exaustivos ou ainda que possuem frequência de treinamento muito elevado

podem exceder a capacidade do sistema antioxidante endógeno e, em decorrência, promover graves lesões musculares, com consequente processo inflamatório e estresse oxidativo (Cruzat e colaboradores, 2007).

Diante disso, a adequação ao treinamento físico pode ser importante para minimizar a produção de radicais livres, através da realização de treinamentos com sobrecargas progressivamente ajustadas (Antunes Neto e colaboradores, 2013).

Desta forma, o consumo máximo de oxigênio (VO_2 max) é um parâmetro fisiológico importante para avaliar o nível da capacidade funcional do sistema cardiorrespiratório (Ferguson, 2014) sendo constantemente aplicado para obtenção de um padrão que melhor possa ser utilizado como referência para a prescrição do exercício físico (Hill, Poole e Smith, 2002), bem como para a prescrição do treinamento físico (Lima, Voltarelli e Kietzer, 2015).

Para isso os testes indiretos utilizam equações de predição para determinar o VO_2 max em diferentes populações, possibilitam ampla aplicação prática (De Almeida e colaboradores, 2010).

Estudo realizado por De Almeida e colaboradores (2010), propuseram e validaram uma equação de predição do VO_2 max para jovens brasileiros fisicamente ativos através do teste de corrida em 1600m, sendo uma importante ferramenta para a prescrição do treinamento de jovens atletas afim de contribuir para um melhor desempenho físico, uma vez que a participação de atletas ainda na fase infantil e durante a adolescência, 15 a 17 anos, em grandes competições nacionais e internacionais vem crescendo nos últimos anos, desta forma algumas discussões em relação a melhor forma de prescrição para o treinamento esportivo, principalmente relacionada a intensidade são de grande importância (Naughton e colaboradores, 2000).

Diante disso, o objetivo do estudo foi investigar o efeito agudo do teste de 1600m sobre o estresse oxidativo e marcadores indiretos de dano muscular em corredores juvenis.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética da Universidade Federal de Sergipe (protocolo de pesquisa nº 643.484/2014).

Participaram do estudo nove adolescentes entre 15 e 18 anos de idade, residentes na cidade de Aracaju-SE, que tivessem boas condições de saúde e fossem praticantes de corrida por pelo menos um ano.

Todos os adolescentes foram informados sobre o risco envolvidos antes de assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido assinado por eles e seus respectivos responsáveis.

Os critérios de exclusão foram: presença de doenças crônicas (ex: cardiovasculares, osteoarticulares, metabólicas, psiquiátricas, endócrinas) e tabagismo.

Além disso, os sujeitos incluídos não puderam ingerir bebida alcoólica, café, medicação e nem realizar exercício físico durante 24 horas antes do experimento. Os alimentos recomendados para manter abstinência foram dentre eles: chocolate e produtos à base de cacau, açaí, guaraná em pó, chás pretos (mate, ice tea, bebidas energéticas), refrigerantes à base de cola e de guaraná e o café (Santos e colaboradores, 2013).

Protocolo do Teste de 1600m

Previamente à execução do teste os indivíduos realizaram uma sessão de familiarização. Após uma semana foi realizado a sessão experimental, onde foi realizado o teste proposto.

Tanto na familiarização quanto nas sessões experimentais a ordem de aplicação dos testes foi aleatorizada para que esta não gerasse interferência nos resultados.

Para execução do teste foram utilizados três cronômetros digitais (FLIX TECHNOLOGY®, TIMEX IROMAN G85, EUA) para medir o tempo de execução do presente teste.

Previamente ao teste, os voluntários realizaram um aquecimento de 5 minutos, composto por trote e alongamento ativo.

Logo após o aquecimento os voluntários correram a distância de 1600 metros, no menor tempo possível, em pista de atletismo (400m).

Análises bioquímicas

Foram coletados pré-teste e pós-teste 4 ml de sangue da veia branquial e colocados em tubos à vácuo contendo EDTA (obtenção de plasma e eritrócitos) sem anticoagulante (obtenção de soro) e após realizou-se a centrifugação dos mesmos a 4000rpm durante 10 minutos. Depois disso, o soro foi armazenado a -70 °C antes de serem analisadas posteriormente.

A determinação do estresse oxidativo tecidual foi avaliada através da quantificação de lipoperoxidação pelo teste substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs). O plasma foi incubado com tampão ácido acético (pH 3,5), dodecil sulfato de sódio 10% e ácido tiobarbitúrico 0,6% a 90°C durante 1 hora.

Após os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 4000rpm. O sobrenadante foi utilizado para a leitura espectrofotométrica em 532nm, utilizando-se malondialdeído como padrão (Lapenna e colaboradores, 2001).

A atividade da glutationa peroxidase (GPx) foi determinada utilizando kit específico laboratorial de acordo com as normas do fabricante kit comercial (Labtest®).

A quantificação da lesão tecidual provocada pelo treinamento resistido de alta intensidade foi avaliada através da mensuração dos marcadores enzimáticos de lesão tecidual como creatina-quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) utilizando kit específico laboratorial de acordo com as normas do fabricante kit comercial (Labtest®).

Estatística

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão da média e analisados estatisticamente por meio do Teste *t* de Student para comparação de cada variável bioquímica entre os dados pré-teste e pós teste. O nível de significância pré-estabelecido foi de 5% ($p < 0,05$). O software utilizado para análise dos dados foi o GraphPad Prism versão 5.0.

RESULTADOS

No marcador de estresse oxidativo não houve um aumento do estresse oxidativo tecidual (pré- $0,48 \pm 0,12$ nmol Eq MDA. mL e pós - $0,66 \pm 0,07$ nmol Eq MDA. mL) avaliado pelo TBARs no pós-teste (Figura 1).

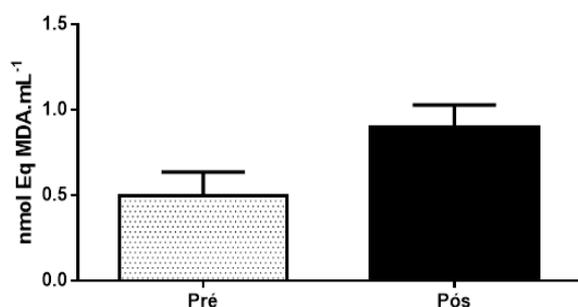


Figura 1 - Concentrações plasmáticas dos marcadores de TBARS pré e pós-teste de 1600m.

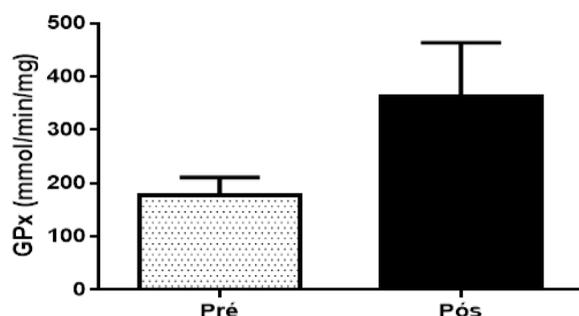


Figura 2 - Concentrações plasmáticas médias da enzima antioxidante GPx pré e pós teste de 1600m.

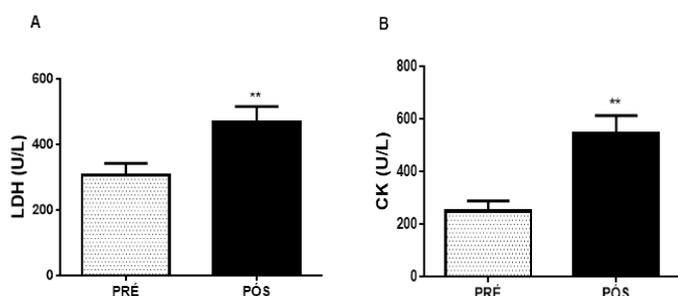


Figura 3 - A. Concentrações plasmáticas de LDH pré e pós-teste de 1600m. B. Concentrações plasmáticas de CK pré e pós-teste de 1600m.

Em relação a enzima antioxidante, o protocolo não promoveu um aumento significativo estatisticamente da atividade da glutatona (pré- 177 mmol/min/mg \pm 33,45 e pós - 364 mmol/min/mg \pm 100,01) depois do teste (Figura 2).

As concentrações de lactato desidrogenase (pré- 250,22 U/L \pm 87,12 e pós - 545,68 U/L \pm 152,17, $p = 0.0378$) e da creatina quinase (pré- 307,45 U/L \pm 70,37 e pós - 467,42 U/L \pm 97,83, $p = 0.0055$)

houveram aumentos significativos depois do teste de 1600m comparado ao pré-teste, ilustradas na figura 3.

DISCUSSÃO

O exercício físico quando realizado de forma adequada, promove benefícios no sistema orgânico. No entanto, indivíduos que se submetem a exercícios intensos e prolongados ou treinos exaustivos ou que possuem frequência de treinamento muito elevada podem aumentar a produção das EROs e, conseqüentemente levar a um estresse oxidativo (Cruzat e colaboradores, 2007).

Sabe-se que a ligação entre exercício físico e estresse oxidativo está inteiramente relacionada à intensidade e duração do treinamento. Desta forma, o protocolo de treinamento deve ter volume e intensidade suficiente, para designar uma resposta adaptativa ao organismo a cada sessão. Além disso, as EROs atacam lipídios abstraindo seus elétrons, a fim de encontrar um estado químico estável.

Como o TBARS não apresentou um aumento significativo, uma possível explicação seria pelo aumento da atividade de enzimas antioxidantes que estaria atuando para equilibrar o sistema afim de reduzir o estresse oxidativo.

No entanto, nos resultados do presente estudo não demonstram diferença significativa da atividade da glutatona peroxidase (GPX), entre os momentos pré-teste e o pós-teste. Uma hipótese para os resultados supracitados é que a GPx é mais eficiente na presença de altas concentrações de EROs, contudo o não aumento da peroxidação lipídica pode ter influenciado na atividade antioxidante.

Além do mais, estudos apresentam diferenças adaptativas entre os exercícios aeróbios e anaeróbios, mostrando que a atividade da enzima GPx em eritrócitos estava aumentada nos corredores de longa distância e levantadores de peso (Selamoglu e colaboradores, 2000).

Na mesma linha de trabalho, Inal e colaboradores (2001), analisando o metabolismo anaeróbio em exercício agudo de natação, observaram que a produção de RL (radicais livres) foi maior do que a capacidade antioxidante.

Por outro lado, Subudhi e colaboradores (2001), avaliando esquiadores alpinos de elite após treinamento intenso, não observaram mudança nos marcadores de estresse oxidativo, supondo que estes atletas tiveram uma adaptação positiva em seus mecanismos antioxidantes com o treinamento.

Nesse estudo observou-se que atividade do TBARS foi menor que o nível da glutatona (GPx) o que sugere que adaptações compensatórias no sistema antioxidante tecidual tenham ocorrido (Schneider e Oliveira, 2004), uma vez que os participantes do estudo tinham no mínimo um ano de participação no esporte.

Além disso, o processo adaptativo do treinamento físico é capaz de proteger os indivíduos treinados na maioria das situações de exposição ao exercício (Schneider e Oliveira, 2004).

Os radicais livres são enormemente reativos e a sua ativação pode levar a processos traumáticos nos tecidos através do desencadeamento de várias cadeias de reações. Atualmente, sabe-se que o exercício físico intenso e contínuo é acompanhado pela produção de radicais livres que ocasionam alterações das membranas celulares (Cordoba e Navas, 2000).

Isto promove lesões de fibras musculares, seguida por um processo inflamatório, o que conduz a uma diminuição da função muscular com a liberação de enzimas musculares, alterações histológicas e dor muscular (Cordoba e Navas, 2000).

No entanto, alguns estudos demonstram que atividades intensas, ocasionam um aumento nas concentrações de LDH e CK, sem alterações nas atividades oxidantes e antioxidantes corroborando com os resultados do nosso estudo (Cruzat e colaboradores, 2007; Taghiyar e colaboradores, 2012).

Souza e colaboradores (2010) evidenciaram que após uma partida de futsal tanto os níveis de CK e LDH ficaram elevados, promovendo um dano muscular seguido por um aumento dos radicais livres.

Além disso, estudos mostram que atividades que possuem ações musculares (excêntrica, concêntrica e isométrica) agregadas ao treinamento de força ocasionam dano muscular. Por outro lado, pesquisadores relacionam a ação excêntrica como à maior causa de dano muscular.

Desta forma, tanto no exercício aeróbio exaustivo quanto no anaeróbio são observados aumento do estresse oxidativo, que pode influenciar no aumento dos níveis de marcadores indiretos de dano muscular, nesse caso a CK e o LDH (Souza e colaboradores, 2010).

Diante disso, é necessária uma maior atenção na prescrição de treinamento, uma vez que, o aumento de alguns indicadores de danos musculares pode influenciar no desempenho do atleta, bem como o esforço percebido durante as sessões, sendo necessário estratégias de treinamento a fim de potencializar as capacidades físicas envolvidas no esporte e diminuir o estresse oxidativo e acelerar a recuperação.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o teste de 1600m promoveu danos musculares, no entanto não foi gerado estresse oxidativo nos marcadores avaliados.

REFERÊNCIAS

- 1-Amorim, A.G.; Tirapegui, J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. *Revista de Nutrição*. Vol. 21. Num. 5. 2008. p.563-575.
- 2-Antunes Neto, J.M.F.; Donadon, C.C.; Nader, B.B.; Turolle D.C.S.; Ribeiro, E. Níveis de estresse oxidativo e alterações celulares em tenistas juvenis durante um período competitivo. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*. Vol. 7. Num. 42. 2013. p.450-458. Disponível em: <<http://www.rbpfex.com.br/index.php/rbpfex/article/view/505>>
- 3-Córdova, A.; Navas, F.J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. Vol. 6. 2000. p.204-208.
- 4-Cruzat, V.F.; Rogero, M.M.; Borges, M.C.; Tirapegui, J. Aspectos atuais sobre o estresse oxidativo, exercício físicos e suplementação. 2007. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. Vol. 13. Num. 5. 2007. p. 336-342.
- 5-De Almeida, J.A.; Campbell, C.G.S.; Pardono, E.; Sotero, R.C.; Magalhães, G.;

Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício

ISSN 1981-9900 *versão eletrônica*

Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício

www.ibpfex.com.br / www.rbpfex.com.br

Simões, H.G. Validade de equações de predição em estimar o VO₂ max de brasileiros jovens a partir do desempenho de 1600m. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. Vol. 16. Num.1. 2010. p. 57-60.

6-Ferguson, B. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 9th Ed. The Journal of the Canadian Chiropractic Association. Vol. 58. Num. 3. 2014. p.328.

7-Halliwell B.; Whiteman, M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*. Vol. 142. Num. 2. 2004. p. 231-55.

8-Hill, D.W.; Poole, D. C; Smith, J. C. The relationship between power and the time to achieve VO₂ max. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. Vol. 34. 2002. p. 709-714.

9-Inal M.; Akyüz, F.; Turgut, A.; Getsfrid, W.M. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. Vol. 33. 2001. p. 564-567.

10-Lapenna, D.; Ciofani, G.; Pierdomenico, S.D.; Gamberardi, M.A; Cuccurullo, F. Free Radical Biology & Medicine. Vol. 31. 2001. p. 331-335

11-Lima, D.S.; Voltarelli, F.A.; Kietzer, K.S. Verificação de um biomarcador de estresse oxidativo em atletas de natação em período específico de treinamento físico. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*. Vol. 9. Num. 51. 2015. p. 97-104. Disponível em: <<http://www.rbpfex.com.br/index.php/rbpfex/article/view/746>>

12-Naughton, G.; Farpour-Lambert, N.J.; Carlson, J.; Bradney, M.; Praagh, E.V. Physiology issues surrounding the performance of adolescent athletes. *Sports Med*. Vol. 30. 2000. p. 309-325.

13-Santos, J.L.; Lima, C.A.; Araújo, S.S.; Miguel-Dos-Santos, R.; Estevam, C.S.; Freire, J.M.M. Efeito Ergogênico da Cafeína em Exercício de Prioridade Anaeróbica. Vol. 7. Num. 2. 2013. p. 109-116.

14-Schneider, C.D.; Oliveira, A.R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. Vol.10. Num.4.2010. p.308-313.

15-Selamoglu S.; Turgay, F.; Kayatekin, B.M.; Günenc, S.; Yslegen, C. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. *Acta Physiologica Hungarica*. Vol.87. 2000. p.267-73.

16-Shami, N.J.I.E.; Moreira, E.A.M. Licopeno como agente antioxidante. *Revista de Nutrição*. Vol. 17. Num. 2. 2004. p. 227-236.

17-Souza, C.T. Avaliação sérica de danos musculares e oxidativo em atletas após partida de futsal. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano*. Vol. 4. 2010. p. 269-274.

18-Subudhi, A.W.; Davis, S.L.; Kipp, R.W.; Askew, E.W. Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. Vol. 11. 2001. p.32-41.

19-Taghiyar, M.; Darvishi, L.; Askari, G.; Feizi, A.; Hariri, M.; Mashhadi, N.S.; Ghiasvand, R. The effect of vitamin c and e supplementation on muscle damage and oxidative stress in female athletes: a clinical trial. *International Journal of Preventive Medicine*. Vol. 2. Num. 3. 2012. p. 145-150.

Recebido para publicação 29/01/2018
Aceito em 12/03/2018